N° 26. **I. Walker,** Zürich. — *Drosophila* und *Pseudeucoila II*. Schwierigkeiten beim Nachweis eines Selektionserfolges [1]. (Mit 3 Textabbildungen.)

Zoologisch-vergl. anatomisches Institut der Universität Zürich.

1. Einleitung

Diese Arbeit schliesst unmittelbar an eine, vor einem Jahr publizierte Mitteilung an (Hadorn und Walker, 1960). Auf eine ausführliche Einleitung sowie auf eine Beschreibung der Versuchsmethode wird deshalb verzichtet. In der vorangegangenen Arbeit wurde anhand der sogenannten Kapselraten (% Wirtslarven, die den Parasiten in Pigmentkapseln hüllen) gezeigt, dass durch geeignete Selektionsexperimente die Abwehrfähigkeit von *Drosophila*stämmen gegenüber der Schlupfwespe *Pseudeucoila* erhöht werden kann. Hingegen gelang es nicht, denselben Selektionserfolg in einer verbesserten Fliegenschlüpfraten (%erfolgreiche Wirte trotz Parasitierung) nachzuweisen. Die vorliegende Arbeit befasst sich nun mit folgender Frage: Warum zeigt ein Wirtsstamm, der durch wiederholte Parasitierung unter einem gewissen Selektionsdruck steht, und der nachweislich seine Abwehrfähigkeit unter diesem Selektionsdruck erhöht (verbesserte Kapselraten), trotzdem keine verbesserte Überlebenschance d. h. verbesserte Schlüpfraten (vergl. Hadorn und Walker, 1960, Abb. 4 und 5).

Im Folgenden soll nun untersucht werden, von welchen Faktoren die Fliegenschlüpfrate in einem solchen Experiment abhängig ist.

2. Resultate

a) *Die Abhängigkeit der Fliegenschlüpfrate vom Parasitierungsgrad.*

Je mehr Drosophilalarven parasitiert werden, desto mehr Wespen, bzw., desto weniger Fliegen schlüpfen aus der betreffenden

---

[1] Ausgeführt mit Unterstützung der Karl Hescheler-Stiftung.
Herrn Prof. E. Hadorn bin ich für die Förderung dieser Arbeit zu herzlichem Dank verpflichtet.
Herrn Prof. H. Burla danke ich für seine wertvolle Mitberatung.

Zucht. Da nie alle Versuchslarven parasitiert wurden, schlüpfen aus einer Schale nebst den erfolgreich abwehrfähigen Wirten immer noch eine Anzahl nicht parasitierter Fliegen. Die durch Auszählen ermittelte Fliegenschlüpfrate ist deshalb kein zuverlässiges Mass für die Abwehrfähigkeit der Wirtslarven. Durch die in der früheren Arbeit beschriebene Methode wurde die jeweilige Anzahl nicht infizierter Fliegen berechnet, so dass sich die Kurvenwerte (Hadorn und Walker, 1960, Abb. 5) nur noch auf parasitierte Wirte beziehen.

b) *Die Abhängigkeit der Fliegenschlüpfrate von der genetisch bedingten Abwehrfähigkeit.*

Die genetische Abwehrfähigkeit eines Drosophilastammes wird mehr oder weniger manifest in der Kapselrate. Dass die Abwehrfähigkeit der Hybriden durch Selektion gesteigert werden kann, ist nachgewiesen (Hadorn und Walker, 1960, Abb. 4).

Diese Verbesserung der Abwehrreaktion zeigt sich bei den Schlüpfraten aber nur in einem Vergleich zwischen dem Wert der Selektionszucht und demjenigen der Kontrolle in der 9. Generation (Hadorn und Walker, 1960, Abb. 5. P für Hi $\times$ Lx $< 0{,}01$; P für Lx $\times$ Hi $< 0{,}02$). Dagegen kommt im Gesamtverlauf der Selektionskurven dieser beiden Stämme die Verbesserung der genetischen Abwehrfähigkeit nicht zur Geltung. Man muss daher annehmen dass, obschon zwar immer mehr Wirte Kapseln bilden können, der Anteil Wirtslarven mit nicht erfolgreicher Kapselbildung zunimmt. Kapselbildung ist dann erfolglos, wenn der Parasit die Umhüllung sprengt und sich davon befreit; ferner wenn Wirtslarven mehr als ein Parasitenei enthalten aber nicht alle einkapseln. Als genetisch bedingt kann das Absinken der Schlüpfraten der Hybriden von der ersten bis zur dritten Generation erklärt werden: infolge der Dominanz der Abwehrreaktion mendeln erst in der 2. Generation wieder schwach abwehrfähige Luxortypen heraus. Die Übereinstimmung der Kurven der beiden Hybriden weist auf ihre gleiche genetische Konstitution hin, d. h. weder ein Maternal-Effekt noch das Cytoplasma, noch die Geschlechtschromosomen scheinen an der Übertragung der Reaktionsfähigkeit wesentlich beteiligt zu sein.

c) *Die Abhängigkeit der Fliegenschlüpfrate von der Überinfektion.*

Genetisch abwehrfähige Wirtslarven, die einen einzigen Parasiten mit Erfolg einkapseln, sind sehr häufig nicht im Stande, zwei oder mehr Parasiten unschädlich zu machen. Je massiver die

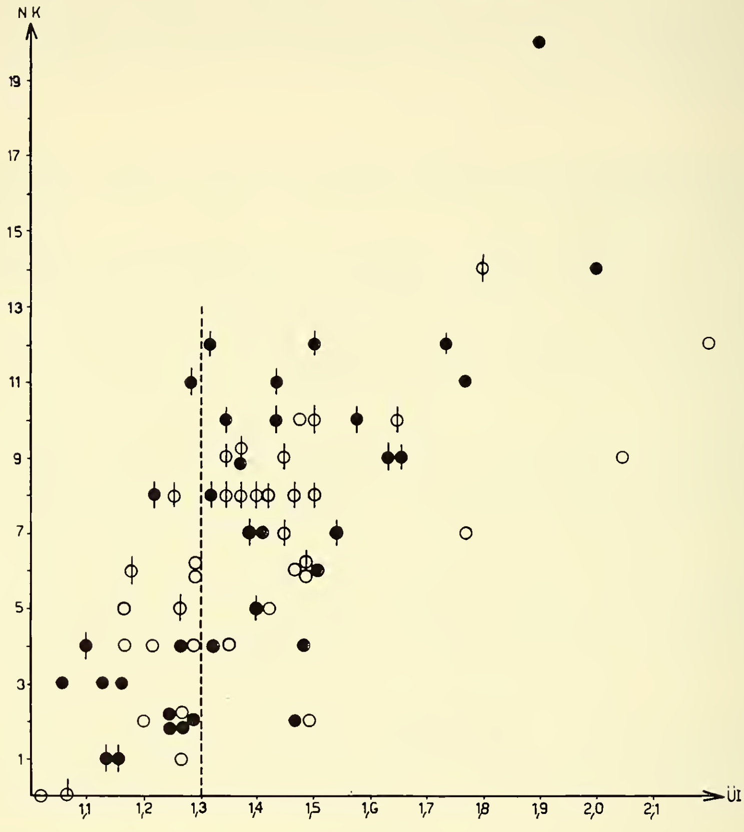


Abb. 1.

Abhängigkeit der Anzahl Wirtslarven mit nicht erfolgreichen Kapseln (NK) von der Überinfektion (UI) im Muster von je 30 sezierten Wirtslarven. Ausgefüllte Kreise: Hi × Lx; leere Kreise: Lx × Hi; Kreise ohne Strich: 1—6. Selektionsgeneration; Kreise mit Strich: 7.—12. Selektionsgeneration.

Überinfektion wird, je grösser sollte somit der Anteil Wirte mit nicht erfolgreicher Kapselbildung werden. Abb. 1 bestätigt diese Annahme. Jeder Punkt gibt Auskunft über die Anzahl Wirte mit

nicht erfolgreicher Kapselbildung in einer sezierten 30-iger- Gruppe. Aufgetragen wurden die Sektionsresultate aller 30-iger-Gruppen der Stämme Hi × Lx und Lx × Hi im Laufe der 12 Generationen. Um festzustellen, ob in späteren Generationen gleich stark parasitiert wurde wie in früheren, wurden alle zwischen der 7. und 12. Selektionsgeneration ermittelten Versuchspunkte mit einem Strich markiert. Bei zufälliger Parasitierungsintensität müssen sich die Punkte hoher Überinfektion gleichmässig über alle Generationen verteilen.

Von denjenigen Versuchsdaten, die eine relativ niedrige Überinfektion (1—1,3) zeigen, fallen nur 33,3% zwischen die 7. und 12. Selektionsgeneration, während von den Daten mit hohen Überinfektionswerten (1,3—2,2) 60,0% zu den späten Selektionsgenerationen gehören. D. h. die Wirtslarven der späteren Generationen wurden intensiver parasitiert; dadurch sollte der Selektionsdruck erhöht werden. Dies wirkt sich jedoch negativ auf die Fliegenschlüpfrate aus, da in zunehmendem Masse erfolglose Kapseln gebildet werden. Am mangelnden Erfolg der Selektion bei den Schlüpfraten der Hybriden ist somit zum Teil die zunehmende Überinfektion schuld.

d) *Die Abhängigkeit der Fliegenschlüpfrate von der Vitalität der Wirtsstämme.*

Schon im Laufe des Experimentes entstand der Eindruck, dass sich der Zustand der Fliegenpopulation mit der Zeit verschlechtere. Es wurden deshalb zwischen der 11. und 12. Selektionsgeneration zwei Generationen ohne Parasitierung in gewöhnlichen Flaschenzuchten gehalten. Durch diese Massnahme konnten die Schlüpfraten aller drei Genotypen, ganz besonders aber von Hi, verbessert werden. Schlechte Vitalität der Wirtslarven kann sich auf folgende zwei Arten auf die Fliegenschlüpfraten auswirken: 1. Geschwächte, abwehrfähige Wirte bilden schlechtere Kapseln, von denen sich der Parasit wieder befreien kann; der prozentuale Anteil erfolgreicher, parasitierter Wirte wird dadurch verkleinert. 2. Subvitale Wirte sterben vor dem Puppenstadium ab. Dadurch wird allerdings der Kurvenverlauf der Schlüpfraten nicht betroffen, da sich die Kurvenwerte nur auf vitale Tiere beziehen. Hingegen wird die Gesamtschlüpfrate (Geschlüpfte Fliegen und Wespen einer Zuchtschale) durch larvale Letalität beeinträchtigt.

Abhängigkeit der Kapselbildung von der Selektionsgeneration? Für die Prüfung dieser Frage werden vor allem die Versuchsresultate des Stammes Hi als Beispiel gewählt. Infolge der Homozygotie des Stammes und der Konstanz seiner genetischen Abwehrfähigkeit (Kapselrate = 90—100%, Hadorn

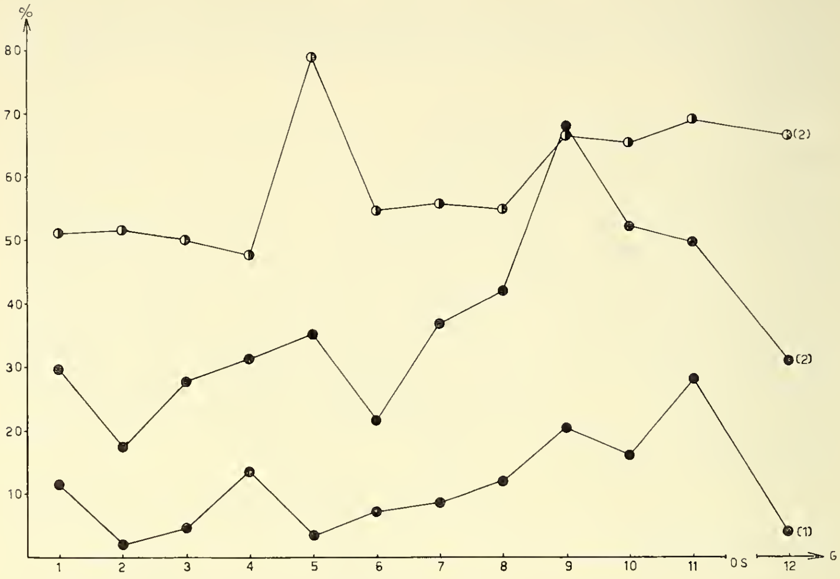


Abb. 2.

Anteile (%) Wirtslarven mit nicht erfolgreicher Kapselbildung in % aller kapselbildener Wirtslarven im Laufe der Generationen (G).
Ausgefüllte Kreise: Hi; halbierte Kreise: Hi × Lx und Lx × Hi; 1, bzw. 2; einfach, bzw. doppelt parasitierte Wirtslarven. OS: 2 Generationen ohne Selektion gezüchtet. Anzahl untersuchte Wirtslarven pro Kreis: Hybride: 18-53, Hi (1): 33-51; Hi (2): 16-29.

und Walker, 1960, Abb. 4) manifestiert sich der Einfluss der Inzucht am ungestörtesten. Trotz der konstanten Kapselraten sinkt der Anteil erfolgreicher Wirte (1960, Abb. 5) von der 2. bis zur 11. Generation kontinuierlich um ca. 30%, währenddem sich die nicht selektionierten Kontrollen auf dem anfänglichen Niveau halten (Die niedrige Schlüpfrate in der 1. Generation ist starker Überinfektion zuzuschreiben). Nach dem Züchten zweier unselektionierter Massengenerationen steigt der Anteil erfolgreicher Wirte auf die bisher unerreichte Höhe von 82%; die Kontrolle bleibt

dagegen auf ca. 60%. Es wird zunächst untersucht, ob sich diese Verschlechterung der Fliegenschlüpfrate durch eine Zunahme von Wirten mit nicht erfolgreichen Kapseln erklären liesse. Um den Einfluss der Überinfektion auszuschalten, wird die Abhängigkeit der erfolglosen Kapselbildung von der Selektionsgeneration für einfach und doppelt parasitierte Wirtslarven getrennt dargestellt. Dabei werden drei- und mehrfach parasitierte Wirte nicht berücksichtigt. In Abb. 2 sind drei Kurven dargestellt: 1. Anteil der Hi-Wirtslarven, deren Parasit sich von seiner Kapsel befreit hat in Prozent aller einfach parasitierten, kapselbildenden Wirtslarven; 2. der Anteil Hi- Wirtslarven, die von zwei Parasiten nur den einen eingekapselt hatten in Prozent aller doppelt parasitierten, kapselbildenden Wirtslarven; 3. für die beiden Hybriden wurde ebenfalls der Anteil doppelt parasitierter Wirte mit nicht erfolgreicher Kapselbildung aufgezeichnet. Da die Kurven von Hi × Lx und Lx × Hi weitgehend gleich verlaufen, wurde aus den beiden eine einzige Kurve konstruiert.

Beide Kurven von Hi steigen bis zur 11. Generation deutlich an, d. h. die Fähigkeit, erfolgreiche Kapseln zu bilden, nimmt mit der Zeit ab. Im Laufe der beiden unselektionierten Generationen konnte sich der Stamm offenbar erholen, so dass die Kapselbildung in der 12. Generation weit erfolgreicher ausfiel. Es zeigt sich somit deutlich, dass der Erfolg der Kapselbildung durch Inzucht beeinträchtigt wird.

An Hand der Kurve der Hybriden lässt sich diese Verschlechterung der Kapselbildung weniger gut nachweisen. Der Anteil Wirte mit erfolglosen Kapseln steigt von der 1. bis zur 12. Generation nur um ca. 15%. Infolge der Heterozygotie der Stämme liegt der Prozentsatz nicht erfolgreicher Kapseln von Anfang an wesentlich höher als beim reaktionsstarken Stamm Hi. Da durch Selektion laufend reaktionsschwache Typen eliminiert werden, und damit die genetische Abwehrfähigkeit der Stämme allmählich verbessert wird (S. 253), wäre zu erwarten, dass mit der Zeit mehr erfolgreiche Kapseln gebildet würden, d. h. die Kurve müsste eine fallende Tendenz zeigen. Der stetigen Verbesserung der Abwehrreaktion durch die Selektion wirkt offenbar eine Schwächung der Wirtslarven durch Inzucht entgegen, so dass trotz erhöhter, genetischer Abwehrfähigkeit eher weniger erfolgreiche Kapseln gebildet werden können. Es ist auffallend, dass in der 5. Generation mit der höchsten

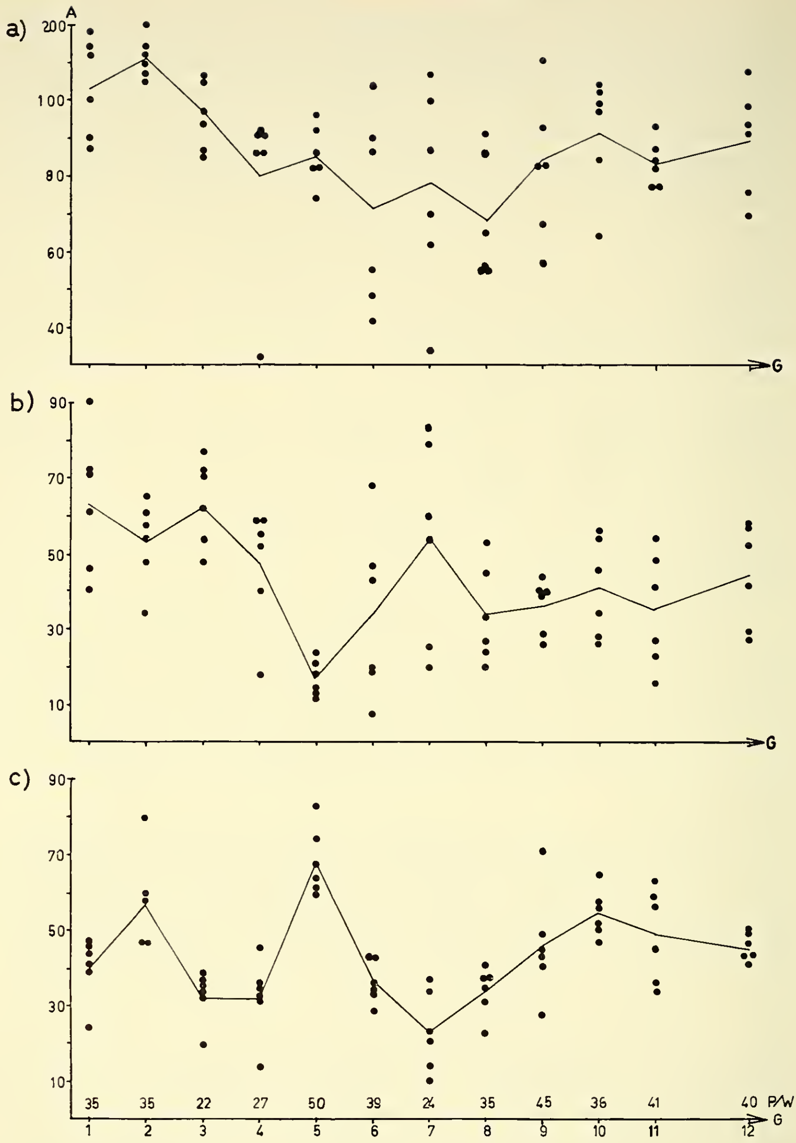


Abb. 3.

a) Gesamtschlüpfraten; *b)* Fliegenschlüpfraten; *c)* Wespenschlüpfraten der Hybriden (Hi × Lx, Lx × Hi) im Laufe von 12 Selektionsgenerationen (G). OS: 2 Generationen ohne Selektion gezüchtet. A: Anzahl geschlüpfte Tiere pro Zuchtschale. Kurve: arithmetische Mittelwerte der Einzelschlüpfraten (Punkte). P/W: durchschnittliche Anzahl Parasiten in 30 sezierten Wirtslarven.

Überinfektion (Abb. 3) auch die Kapselbildung weitgehend erfolglos ist. Die zahlenmässige Überinfektion hat damit allerdings nichts zu tun, da sich die Kurvenwerte ja nur auf doppelt parasitierte Wirte beziehen. Es wurde schon früher darauf hingewiesen, dass an sich abwehrfähige Wirtslarven, die verletzt wurden, nur noch in stark vermindertem Masse Kapseln bilden können (Walker, 1959). Da die Wespenweibchen die Wirtslarven durch wiederholtes Anstechen mit dem Legestachel im Futterbrei lokalisieren, werden bei intensiver Legetätigkeit der Parasiten die Wirtslarven öfter angestochen. Diese mehrmalige Verletzung wirkt sich möglicherweise hemmend auf die Kapselbildungsfähigkeit aus.

Abhängigkeit der Gesamtschlüpfrate von der Generation? Ein Vitalitätsverlust infolge von Inzucht müsste sich auch durch eine Zunahme der larvalen Letalität manifestieren. Die Gesamtschlüpfraten (Anzahl Fliegen und Wespen) würde in diesem Falle im Laufe der Generationen abnehmen. In Abb. 3 sind die Gesamtschlüpfraten *a)*, sowie einzeln die Fliegen- *b)* und die Wespenschlüpfraten *c)* der Hybriden aufgezeichnet. Alle 6 Resultate der einzelnen Zuchtlinien sind als Punktschwärme angegeben und die arithmetischen Mittelwerte durch Kurven verbunden.

Die Gesamtschlüpfrate nimmt bis zur 8. Generation um 35 Tiere ab und steigt dann bis zur 12. Generation wiederum etwas an. Die Abnahme bis zur 8. Generation vollzieht sich auf Kosten der Fliegen, wie sich an Hand der Fliegenschlüpfraten feststellen lässt. Das Ansteigen bis zur 12. Generation jedoch beruht hauptsächlich auf erhöhten Wespenschlüpfraten, was eine Folge der intensiveren Parasitierung zwischen der 9. und 12. Generation sein dürfte. Die Extremwerte der Fliegen-, bzw. Wespenschlüpfraten in der 5. und 7. Generation sind durch ausserordentlich unterschiedliche Parasitierungsintensitäten zu erklären (P/W = 50, bzw. 24 Parasiten in 30 sezierten Wirtslarven).

Auffallend sind die grossen Unterschiede zwischen den 6 Einzelergebnissen der Gesamtschlüpfraten. Aus einem Vergleich zwischen den Fliegen- und Wespenschlüpfraten ergibt sich, dass diese grossen Schwankungen der Gesamtraten durch unterschiedliche Fliegenschlüpfraten zu Stande kommen; die Einzelergebnisse der Wespenschlüpfraten sind ausserordentlich übereinstimmend. Diese hängen direkt vom P/W- Wert und vom Genotypus der

Wirtslarven in Bezug auf die Abwehrreaktion ab. Einflüsse wie Futterverschimmelung oder variierende Vitalität der Einzelzuchtlinien scheinen somit nur die Mortalität der Drosophilalarven zu betreffen, währenddem die Parasiten davon weitgehend unberührt bleiben. Wenn die Parasiten aber vital sind und zum Schlüpfen kommen, müssen ihre Wirtslarven bis zur Pupariumbildung ebenfalls vital sein. Demnach wären Drosophilalarven mit einem lebenden Parasiten vitaler, d. h. unabhängiger von Umwelteinflüssen und genetischer Gesamtkonstitution als nicht parasitierte Larven. Oder anders ausgedrückt: Parasitierung durch Pseudeucoila wirkt auf die Wirtslarven bis zum Zeitpunkt der Metamorphose vitalisierend.

Um die Möglichkeit einer solchen Einwirkung zu prüfen, wurde eine Versuchsserie mit einem letalen Wirtsstamm durchgeführt. Verwendet wurden Drosophilalarven des Stammes „lethal 8" *(l_8)*[1]: Homozygote l_8- Larven sterben vor der Metamorphose, z. T. nach stark verlängertem III. Stadium; einige wenige bilden noch sehr verspätete Pseudopuparien. Ein Vitalisierungseffekt durch Parasitierung würde sich eventuell dadurch zeigen, dass mehr letale Larven Pseudopuparien bilden, oder auch dadurch, dass die Pupariumbildung früher erfolgt. So wurden verschiedene Serien von l_8- Larven des III. Stadiums (sie sind erst dann mit Sicherheit von den $l_8/+$ und $+/+$ Geschwistern zu unterscheiden) parasitiert und Prozentsatz sowie Zeitpunkt der Pseudopupariumbildung festgestellt. Gleichzeitig wurde eine Anzahl nicht parasitierter l_8- Larven als Kontrolle unter Beobachtung genommen.

Die Resultate in Tab. 1 (*a), b)*) bestätigen beide Erwartungen. Parasitierte l_8- Larven bilden häufiger und in einem früheren Zeitpunkt Pseudopuparien als nicht parasitierte. Echte Puppen fanden sich jedoch in keinem Falle; die vor der Metamorphose stehenden Pseudeucoilalarven starben zwischen dem 4. und 7. Tage nach der Bildung der Pseudopuparien. Offenbar ist die Metamorphose der Parasitenlarven ihrerseits von der erfolgreichen Metamorphose der Wirte abhängig.

Die Versuche mit dem Letalstamm l_8 sind ein Hinweis darauf, dass Parasitierung auf die Wirtslarven bis zum Zeitpunkt der Metamorphose vitalisierend wirken könnte. Da sich Parasitierung

---

[1] Frl. Regula Gloor danke ich bestens für die Ueberlassung der Mutante l_8.

TABELLE 1

a) *Verpuppungshäufigkeit parasitierter und nicht parasitierter l_8- Larven.*

Serie No.	Parasitiert Larval tot	Parasitiert Verpuppt	Nicht parasitiert, Kontrollen. Larval tot	Nicht parasitiert, Kontrollen. Verpuppt
1.	16	20	52	8
2.	7	7	26	2
3.	13	—	24	3
4.	45	—	50	—
5.	23	11	66	9
Total:	104	38	218	22
%	73,2	26,8	90,8	9,2

$X^2 = 26,4$; $P \ll 0,01$.

b) *Verpuppungszeiten parasitierter und nicht parasitierter l_8- Larven.*

Tag nach Parasitierung	Anzahl verpuppte Larven			
	Parasitiert		Nicht parasitiert	
	Anzahl	%	Anzahl	%
Serie 1.				
7. Tag	18	90,0	1	12,5
9. »	2	10,0	5	62,5
10. »	—	—	2	25,0
Serie 5.				
8. Tag	11	100,0	3	33,3
11. »	—	—	4	44.5
13. »	—	—	2	22,2

schon an einer ausgesprochenen Letalmutante deutlich auswirkt, ist anzunehmen, dass Wirtslarven, deren Vitalität durch irgend welche Faktoren herabgesetzt ist, infolge von Parasitierung noch zu einer normalen Metamorphose gelangen. In diesem Sinne dürfte die häufige Beobachtung gedeutet werden, dass Futterverschimmelung, die die Vitalität von Drosophilazuchten stark herabsetzt, Pseudeucoilazuchten in keiner Weise beeinträchtigt. Da die Entwicklung der Wespe offenbar nur erfolgt, wenn der Wirt sich

normal verpuppt, ist dieser Vitalisierungseffekt, bzw. das Verpuppungsstimulans für den Parasiten durchaus sinnvoll. Eventuell handelt es sich um ein recht verbreitetes Phänomen bei der Beziehung der Schlupfwespen zu ihren Wirten: So bildet die Fliege *Lucilia sericata*, welche die Winterdiapause normalerweise im letzten Larvenstadium verbringt, schon im Herbst Puparien, wenn Parasitierung durch *Alysia manducator* oder durch *Aphaerata minuta* Nees stattgefunden hat (Holdaway und Evans, 1930). Möglicherweise bestehen zwischen den Metamorphosehormon-Systemen von Wirt und Parasit enge Beziehungen. In unseren Versuchen spricht alles dafür, dass intensive Parasitierung durch *Pseudeucoila* die Vitalität eines — durch die Inzucht der Wirte geschwächten- Gesamtsystemes (Fliegen und Wespen) verbessert. D. h. die Gesamtschlüpfrate wird erhöht, eine Tendenz, die in Abb. 3 (9.—12. Generation) zur Geltung kommt. Das Schlüpfratenverhältnis von Fliegen zu Wespen wird dadurch zu Gunsten der Wespen verschoben.

3. Diskussion

Die durchgeführten Selektionsexperimente zeigen, dass man bei der Betrachtung eines genetischen Systems, durch welches beispielsweise die Abwehrreaktion von Drosophila gegen Pseudeucoila realisiert wird, auf erhebliche Schwierigkeiten stösst. So spielt sich der ganze Versuch unter recht unnatürlichen Verhältnissen ab. Viele Einflüsse klimatischer und oekologischer Art sind im Laborversuch ausgeschlossen. Anderseits entstehen durch die Versuchsanordnung neue, störende Einwirkungen wie z. B. Inzuchteffekte und Überinfektion. Auf Grund solcher Versuchsresultate kann daher nichts Definitives ausgesagt werden darüber, wie sich ein solches genetisches System in freier Natur auswirkt. Hingegen zeigen diese Experimente Möglichkeiten, die das unter Beobachtung gestellte genetische System in freier Natur haben könnte. Welche der Möglichkeiten in einem bestimmten Fall realisiert ist, erweisen nur Untersuchungen einer Parasiten- Wirtspopulation eines gegebenen Ortes zu einer gegebenen Zeit.

4. Summary

In a previous paper (Hadorn und Walker, 1960) it was shown, that by specially designed selection experiments it is possible to

improve the number of *Drosophila* larvae that are capable of defence reaction against the parasitic wasp *Pseudeucoila.* In spite of this fact, the number of successful host flies rather diminishes in the course of the experiment. This effect is due to increasing overinfection and mainly to decreasing vitality as a result of continuous inbreeding. Host larvae that contain more than one parasite often do not encapsulate all of them, or the capsules are not strong enough so that the parasite embryo can get rid of it.

There is strong evidence that parasitism by *Pseudeucoila* improves the viability of subvital or even lethal host larvae and stimulates their puparium formation. After pupation the host is consumed by the parasite.

LITERATUR

Hadorn, E. und Walker, I. 1960. *Drosophila und Pseudeucoila I. Selektionsversuche zur Steigerung der Abwehrreaktion des Wirtes gegen den Parasiten.* Rev. Suisse de Zool. 67: 216-225.

Holdaway, F. G. und Evans, A. C. 1940. *Parasitism a stimulus to pupation: Alysia manducator in relation to the host Lucilia sericata.* Nature 125: 598-599.

Walker, I. 1959. *Die Abwehrreaktion des Wirtes Drosophila melanogaster gegen die zoophage Cynipide Pseudeucoila bochei Weld.* Rev. Suisse de Zool. 66: 569-632.

N° 27. **R. Matthey,** Lausanne. — Etudes de Cytogénétique chez les *Muridae: Reithrodontomys megalotis* Allen, *Hypogeomys antimena* Grandid. et *Neofiber alleni* True. Résumé.

Chacun de ces *Muridae* pose un problème et l'auteur examine dans quelle mesure l'analyse de la formule chromosomique peut contribuer à le résoudre. Il s'agit des rapports des *Cricetinae* palé-